

2017 г.

2.2. Состав, г/л:

Солянокислотный гидролизат казеина, модифицированный.....	17,5
Мясной экстракт	2,0
Крахмал растворимый	1,5
Агар бактериологический	13,0±2,0 ¹⁾

¹⁾ Варьирование величины связано с различной прочностью студня агара

рН от 7,2 до 7,4

Определение рН проводят потенциометрическим методом с применением стеклянного электрода в соответствии с МУК 4.2.2316-08 «Методы контроля бактериологических питательных сред» растворе, приготовленном путем добавления к 2,00 г сухого агара Мюллера-Хинтон II 100 мл дистиллированной воды.

Величина рН, определенная по МУК 4.2.2316-08, является условной величиной, которая соответствует значению рН готовой среды и может незначительно меняться после стерилизации. Пределы значения рН, указанные выше, учитывают отклонения рН после стерилизации среды.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1.Чувствительность среды и стабильность основных биологических свойств микроорганизмов.

Агар Мюллера-Хинтон II обеспечивает через 18-24 ч при посеве по 0,1 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} и инкубации при температуре $(36\pm 1)^\circ\text{C}$ рост тест-штаммов:

- *Escherichia coli* ATCC 25922 в виде круглых слегка выпуклых колоний светло желтого цвета с гладкой блестящей поверхностью,
- *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 в виде круглых, выпуклых, с гладкой блестящей поверхностью непрозрачные колонии желтого цвета,
- *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 в виде плоских, неправильной формы с волнистыми краями колоний желто-зеленого цвета,
- *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 в виде полупрозрачных, круглых колоний, -

3.2.Показатель чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.

Агар Мюллера-Хинтон II обеспечивает через 18-24 ч инкубации посевов при температуре $(36\pm 1)^\circ\text{C}$ равномерный рост тест-штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 в виде газона с образованием четких соответствующего диаметра зон задержки роста вокруг дисков с антибактериальными препаратами (см. табл.) при посеве стерильным тампоном из микробной взвеси, приготовленной по ОСО мутности бактериальных взвесей (5 МЕ) и разведенной в соотношении 1:2 (1 мл микробной взвеси и 2 мл стерильного 0,9% раствора натрия хлористого).



Таблица. Диаметры зон задержки роста вокруг дисков с АБП

АБП	Содержание АБП в диске, мкг	Диаметры зон задержки роста, мм			
		<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 29213	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>E. faecalis</i> ATCC 29212
Гентамицин	10	19-26	19-25	17-23	-*
Имипенем	10	26-32	-*	20-28	24-30
Левифлоксацин	5	29-37	23-29	19-26	19-25
Тетрациклин	30	-*	23-31	-*	-*
Тигециклин	15	20-27	19-25	-*	20-26
Триметоприм-сульфаметоксазол	1,25/23,75	23-29	26-32	-*	26-34
Цефепим	30	31-37	-*	24-30	-*
Эритромицин	15	-*	23-29	-	-
Примечание: *) определение с данными АБП не производят					

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения агара Мюллера-Хинтон II – класс 2 б (Приказ МЗРФ №4н от 06.06.2012 г).

Работу по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам проводить с соблюдением СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру 35 - 37 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Ламинарный шкаф
- Пипетки стеклянные, позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Тампоны стерильные
- Диски с антибактериальными препаратами, разрешенные к применению в установленном порядке
- Пинцеты анатомические
- Автоматический диспенсер
- Отраслевой стандартный образец мутности (ОСО) 5 единиц соответствующего года выпуска.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Взятие анализируемых образцов целесообразно проводить до начала антибактериальной терапии. Образцы берут непосредственно из очага инфекции или исследуют клинически значимый биологический материал. При взятии образцов следует строго соблюдать правила асептики, избегая контаминацию посторонней микрофлорой. Для взятия анализируемых образцов следует использовать стерильные инструменты, а для их транспортирования стерильные пробирки с транспортной средой. Анализируемые образцы хранятся на плотных питательных средах при температуре 4-8 °С не более 7 дней.

Исследованию по оценке чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам подлежат выделенные из клинического материала чистые культуры микроорганизмов или материалы изолированных колоний с плотных питательных сред.

Работу с материалом, содержащим культуры микроорганизмов, его хранение и обезвреживание проводить с соблюдением СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III - IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом проводят в соответствии с требованиями Клинических рекомендаций «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии, Москва, 2014).

7.1. Приготовление среды

Навеску агара Мюллера-Хинтон II в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии агара Мюллера-Хинтон II, тщательно размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 1 мин до полного расплавления агара, стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. Затем среду разливают по 20 мл в чашки Петри диаметром 90 мм. Толщины слоя агара Мюллера-Хинтон II в чашке Петри должна составлять $4,0 \pm 0,5$ мм. Перед разливом чашки Петри устанавливают на строго горизонтальную поверхность (выверенную по уровню, без впадин и выпуклостей). После заполнения чашки с агаром закрывают и оставляют при комнатной температуре для застывания на 18-24 часов. Готовый агар Мюллера-Хинтон II в чашках Петри прозрачный желтого цвета.

Готовый агар Мюллера-Хинтон II в чашках Петри можно хранить в при 4-8 °С в течение 7 сут.



7.2. Исследование образца

7.2.1. Приготовление инокулята

Для определения чувствительности микроорганизмов к АБП каждую культуру бактериологической петлей переносят в пробирку со стерильным 0,9% раствором натрия хлористого и доводят концентрацию микробной взвеси до 5 МЕ по отраслевому стандартному образцу мутности, соответствующего года выпуска. Стандартную бактериальную суспензию готовят путем разведения полученных микробных взвесей в соотношении 1:2 (1 мл микробной взвеси и 2 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлористого) до концентрации $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл.

7.2.2. Инокуляция чашек Петри с агаром Мюллера-Хинтон II

Бактериальную суспензию, приготовленную по п.7.2.1. инокулируют на агар в течение 15 минут после ее приготовления. Для равномерного посева используют стерильные вязкие или стерильные хлопковые тампоны. *Тампоны предназначены только для однократного применения, повторное их использование приведет к ошибочным результатам!* Тампон погружают в бактериальную суспензию микроорганизма, избыток инокулята удаляют, отжимая тампон о стенки пробирки. Избыток суспензии может привести к избыточному росту микроорганизмов, что особенно характерно для грамотрицательных бактерий. Затем тампоном равномерно распределяют суспензию каждого микроорганизма по поверхности чашки Петри с агаром Мюллера-Хинтон II в трех направлениях, поворачивая чашку Петри на 60° для получения сплошного газона.

Посев чашек дублируют в трех повторностях.

7.2.3. Аппликация дисков

На поверхность агара Мюллера-Хинтон II наносят диски с АБП не позднее, чем через 15 мин после инокуляции. Увеличение интервала времени между посевом и аппликацией дисков может привести к искажению результатов. Аппликацию дисков проводят с помощью стерильного пинцета или с помощью автоматического диспенсера, аккуратно прижимая их к поверхности агара Мюллера-Хинтон II. После нанесения на поверхность агара диски нельзя передвигать, т.к. диффузия антибиотика в среду начинается очень быстро. Расстояние от диска до края чашки и между дисками должно быть 15-20 мм. На одну чашку диаметром 90 мм помещают не больше 4 дисков с антимикробными препаратами. Чашки помещают в термостат не позднее чем через 15 минут после наложения дисков.

7.2.4. Инкубация

Посевы инкубируют при температуре $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18-24 ч.

8. УЧЕТ И РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

После окончания инкубации чашки с АБП помещают вверх дном на темную матовую поверхность так, чтобы свет падал на них под углом в 45° (учет в отраженном свете). С помощью штангенциркуля или специальной линейки измеряют диаметр зон полной задержки роста с точностью до 1 мм и определяют среднее значение из трех измерений на трех чашках Петри. Диаметры зон, измеренные вокруг дисков с АБП, сравнивают со значениями в интерпретационных таблицах, представленных в клинических рекомендациях «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам». Эти таблицы содержат пограничные значения МПК (минимальная пограничная концентрация) и соответствующие им пограничные значения диаметров зон подавления роста, которые используются для определения клинической категории чувствительности тестируемых микроорганизмов (чувствительные, умеренно-резистентные и резистентные).

9. УТИЛИЗАЦИЯ

Утилизация серий среды с истекшим сроком годности и в случае повреждения упаковки производится по СанПиН 2.1.7.2790-10 как медицинские отходы, не требующие специальных мер безопасности, принадлежащие к классу «А» - эпидемиологически безопасные отходы или любым методом, предотвращающем повторное использование по назначению, например, сжиганием. Все компоненты агара Мюллера-Хинтон II, входящие в его состав, безопасны и не обладают токсическим воздействием.

Уничтожение агара Мюллера-Хинтон II после проведения исследований осуществляется по СанПиН 2.1.7.2790-10 как медицинские отходы, принадлежащие к классу «Б» с обязательным предварительным обезвреживанием путем автоклавирования в течение 2 ч при температуре $(126 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Обращение с медицинскими отходами следует выполнять согласно схеме, принятой в конкретной организации, осуществляющей медицинскую и (или) фармацевтическую деятельность. Данная схема разрабатывается в соответствии с требованиями вышеуказанных санитарных правил и утверждается руководителем организации.

10. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ, ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ

Агар Мюллера-Хинтон II необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2°C до 30°C и относительной влажности не более 60 %. После вскрытия банку с агаром Мюллера-Хинтон II хранят до окончания срока годности при температуре от 2°C до 30°C плотно закрытой, в сухом месте, избегая попадания влаги.

Агар Мюллера-Хинтон II транспортируют всеми видами крытого транспорта при температуре от 2 °С до 30 °С или при температуре от -18°С до +40°С не более 7 суток.

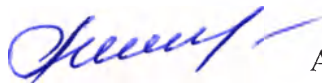
Срок годности: 2 года. Среда с истекшим сроком годности и в поврежденной упаковке использованию не подлежит.

Изготовитель гарантирует соответствие агара Мюллера-Хинтон II заявленным в ТУ 9385-227-78095326-2015 требованиям и функциональным характеристикам с начала использования и в течение всего срока годности при соблюдении условий хранения и транспортирования.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

По всем вопросам, касающимся качества медицинского изделия «Питательная среда для определения чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам, сухая (агар Мюллера-Хинтон II)», обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Московская обл., Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.

Зам. директора
по научно-производственной работе



А.П. Шепелин

«Согласовано»

Генеральный директор
ООО «ВЫМПЕЛ-ЦЕНТР»

П.К.Варнавичус

« 28 » 02 2017 г.



ПРОШИТО
В КОЛИЧЕСТВЕ 7 ЛИСТОВ

«01» 03 2017 год

Г. н. Директор
ООО «ВЫМЦЕЛ-МЕДЦЕНТР»
Варнавинус П.К.

